云 南 植 物 研 究　2008，30 (2)：232～238
Acta Botanica Yunnanica　DOI: 10.3724/SP. J. 1143. 2008. 07190

植物环蛋白的结构*

唐　军[1,2]，**谭宁华**[1**]，**许文彦**[1,2]，**嵇长久**[1,2]，**潘蓄林**[1]，
Conan Wang[3]，Norelle L . Daly[3]，David J . Craik[3]
(1 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室，
云南 昆明　650204；2 中国科学院研究生院，北京　100049；
3 *Institute for Molecular Bioscience*，*University of Queensland*，Brisbane，QLD 4072，Australia)

摘要：简要介绍了植物环蛋白的定义、结构特点、研究历史、分布、提取分离方法、化学合成与生物合成、生物活性与生物功能。并主要以从紫花蔓地丁 (*Viola labridorica*) 中分离得到的六个环蛋白之一，cycloviolacin O2 为例介绍通过还原酶解 - 质谱与二维核磁共振谱结合鉴定环蛋白结构的研究方法。

关键词：紫花蔓地丁；堇菜科；环蛋白；cycloviolacin O2
中图分类号：Q 946　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0253 - 2700 (2008) 02 - 232 - 07

Structure of Cyclotide: Cycloviolacin O2*

TANG Jun[1,2]，TAN Ning-Hua[1**]，XU Wen-Yan[1,2]，JI Chang-Jiu[1,2]，PAN Xu-Lin[1]，
Conan WANG[3]，Norelle L . DALY[3]，David J . CRAIK[3]
(1 *State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China*，*Kunming Institute of Botany*，*Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650204，China；2 *Graduate University of Chinese Academy of Sciences*，Beijing 100049，China；
3 *Institute for Molecular Bioscience*，*University of Queensland*，Brisbane，QLD 4072，Australia)

Abstract: Herein we briefly introduced definition，structural characteristic，history，distribution，extraction and isolation，synthesis and biosynthesis，bioactivity and biofunction of cyclotides . Then we gave cycloviolacin O2 as an example，one of six cyclotides isolated from *Viola labridorica*，to introduce structural determination methods for cyclotides with reduction-enzyme digestion-mass spectra and two-dimensional nuclear magnetic resonance spectra .

Key words: *Viola labridorica*；Violaceae；Cyclotides；Cycloviolacin O2

植物环蛋白 (Tan and Zhou，2006) 也称堇菜科类型环肽 (cyclotides，Violaceae-type cyclopeptides，macrocyclic peptides，circular proteins，cyclic mini-proteins 或 cyclic proteins)，当 1999 年 David J . Craik 用 cyclotides 这一名词来反映其环状多肽本质时 (Craik 等，1999)，环蛋白即被正式确认为一类新的植物蛋白家族。它是植物体内一类富含二硫键，由 28 至 37 个氨基酸残基通过肽键首尾连接的大环肽。其分子中除了含有首尾相连的环状骨架外，还存在六个非常保守的半胱氨酸残基，它们两两之间形成三对二硫键，其中的两对二硫键和环状骨架形成一内环，而第三对二硫键则穿过这一内环形成一独特的环状胱氨酸结 (cyclic cystine knot，CCK)。植物环蛋白的 CCK 结构特征使其特别稳定，能耐常规的酶解和酸解。

最早的植物环蛋白报道为上世纪 70 年代早期关于非洲热带茜草科植物 *Oldenlandia affinis* 的报道，挪威医生 Lorents Gran 发现了非洲扎伊尔

---

[*] 基金项目：中国科学院西部之光项目，国家自然科学基金 (30725048) 及中澳科技合作特别基金项目
[**] 通讯作者：Author for correspondence；E-mail：nhtan@mail.kib.ac.cn
收稿日期：2007 - 09 - 06，2007 - 09 - 30 接受发表
作者简介：唐军 (1977 -) 男，在读博士研究生，主要从事植物环蛋白化学研究。

等地妇女临产前常饮用该植物煎制的茶来催生，后经其研究从该植物的沸水提取物中发现了一种具有子宫收缩作用的多肽（即 kalata B1）（Gran，1973a）。当时通过氨基酸分析只确定了其大多数氨基酸残基和环状特性，直到 1995 年才由 David J. Craik 等人通过二维核磁共振谱和距离限制模拟退火计算分析（distance-restrained simulated annealing）解析出其氨基酸序列、环状骨架和三维结构（Saether 等，1995）。1994 年人们用不同的生物活性筛选模型进行活性追踪，相继发现了 circulin A 与 B（Gustafsan 等，1994）和 cyclopsychotride A（Witherup 等，1994）。至今人们已从堇菜科、茜草科和葫芦科等 10 多种植物中发现了近百个环蛋白分子（Tan and Zhou，2006；Simonsen 等，2005）。

1998 年 Per Claeson 等（1998）提出了植物环蛋白成分的提取分离方法。其思路是先用二氯甲烷脱脂后再用 50% 乙醇冷浸提取，提取液浓缩至一定体积后以聚酰胺柱除去单宁类成分，再用正丁醇萃取；正丁醇萃取部分经 Sephadex-G10 进行分子排阻色谱除去小分子类成分，然后用 RP-18 反相材料进行固相萃取除去多糖类和盐类成分，至此得到总环蛋白的组分。该组分经 LH-20 及 RP-HPLC 反复纯化可得到植物环蛋白。

植物环蛋白具有广泛而多样的生物活性，如子宫收缩（Gran，1973a，b）、抗 HIV（Gustafsan 等，1994）、神经紧张素抑制剂（Witherup 等，1994）、抗微生物活性（Tam 等，1999a）、胰蛋白酶抑制剂（Hernandez 等，2000）、细胞毒活性（Tam 等，1999a）和杀虫活性（Jennings 等，2001）等。基于环蛋白在堇菜科堇菜属植物中具有组织特异性表达的特点，Craik 等（2004）认为环蛋白在植物体内可作为防御性多肽而起杀虫和抗菌的作用，提出环蛋白可能是一类新的植物防御多肽家族。目前研究认为其作用机制可能是通过调节生物膜通透性而起作用的。环蛋白一方面由于其内在的活性可能被直接用作药物或作为新药研究的先导结构；另一方面由于其精确的三维结构、高稳定性和其中一些环（loop）中氨基酸残基的可变性，可连接其它活性新颖的物质而可能成为在多肽药物设计上非常有用的骨架结构，目前已有研究证明这一稳定结构连接其它活性成分的可行性。最为诱人的是环蛋白具有强杀虫活性，可能作为天然的杀虫剂在植物保护上应用。

植物环蛋白三对二硫键形成的 CCK 及其所具有的广泛多样的生物活性，激起了人们对于它的合成和折叠这一极具挑战性研究的兴趣。环蛋白的有机合成研究不仅在环蛋白结构和二硫键连接的验证有着重要作用，而且使经修饰后的环蛋白在医药和农业上应用成为可能。David J. Craik 等（Daly 等，1999）使用两种方法合成了 kalata B1，一种方法是先氧化形成二硫键然后环合，另一种方法是先环合后氧化形成二硫键，而且后一种方法更好。Tam 等（1999b）用 thio-zip 环合方法合成了 circulin B 和 cyclopsychotride A。环蛋白分子的生物合成与那些小的环肽抗生素的生物合成有着明显的区别，后者是微生物经非核糖体途径通过多肽合成酶合成的间接基因产物，常具有经过修饰的氨基酸残基和非肽键存在，而环蛋白则是真正的基因产物，由基因编码的一个较大的前体蛋白经剪切环合而来。Marilyn Anderson 等（Jennings 等，2001）从 *Oldenlandia affinis* 分离得到编码 kalata B1 及其系列环蛋白的 cDNA 克隆。这些 cDNA 克隆编码一段带有 20 个氨基酸残基的信号肽序列和由 46～68 个氨基酸残基组成的 N 末端前体序列及被约 25 个氨基酸残基分隔开的 1 至 3 个环蛋白结构域的原前体肽。

由于环蛋白所具有的环状主链与 CCK 结构而具有对酶解和酸解很强的抗性，要想对它们的结构进行研究首先就需要对其进行还原或还原烷基化后酶解或部分酸水解后再进行测序。具体的方法包括氨基酸组成分析、蛋白酶消化还原或还原烷基化后的 PEC 衍生物、部分酸水解、Edman 降解、FAB-MS、ESI-MS、MALDI-TOF MS、二维核磁共振谱法（DQF-COSY、HOHAHA、TOCSY、NOESY 和 ROESY 等）以及 LC-MS 和 tandem MS。1995 年 Craik 等通过二维核磁共振谱与距离限制模拟退火计算分析方法获得了 kalata B1 在溶液中的三维结构，结果表明其主要是以小转角连接的 β 折叠构成（Saether 等，1995）。除 kalata B1 外人们还对 circulin A、MCoTI-Ⅱ、palicourein、vhr1 和 cycloviolacin O1 溶液中的三维结构进行了测定（Tan and Zhou，2006）。通过对环蛋白结构的分析，将其分为三个亚家族即 Bracelet 亚族、

Moebius 亚族和 TI 亚族（Tan and Zhou，2006；Craik 等，1999）。

本研究组长期从事植物环肽研究，近年新开展植物环蛋白研究，目前正在开展堇菜科紫花蔓地丁（*Viola labridorica*）、三色堇（*V. tricolor*）和如意草（*V. hamiltoniana*）以及葫芦科木鳖子（*Momordica cochinchinensis*）和苦瓜（*M. charantia*）5 种植物的环蛋白研究工作。现已从紫花蔓地丁中分离得到六个环蛋白，其中 3 个环蛋白已通过还原酶解 - 质谱和二维核磁共振谱确定其结构，均为已知环蛋白，分别为 cycloviolacin O2（Craik 等，1999）、kalata B1（Saether 等，1995）和 vary peptide A（Claeson 等，1998）。另外 3 个从质谱数据推测可能是新的环蛋白。本文将主要以 cycloviolacin O2 的结构研究为例介绍植物环蛋白的结构研究方法。

1 材料与方法

1.1 紫花蔓地丁的采集与提取分离

2005 年 11 月于中国科学院昆明植物研究所园区内采集紫花蔓地丁全草，晒干后经适当粉碎（10 kg），用氯仿冷浸 3 次除去脂溶性成分，然后用 50%的乙醇冷浸提取，提取液浓缩至一定体积经聚酰胺柱层析脱单宁后以正丁醇萃取得到总环蛋白部分。总环蛋白部分在 RP-18 材料上固相萃取以除去非肽类成分，最后在高效液相色谱（HP1100，ZORBAX Eclipes XDB-C18（4.6×150 mm））上以含 0.1% TFA 的水与乙腈系统进行分离纯化得到 cycloviolacin O2（16 mg），kalata B1 和 vary peptide A 混合物（9 mg）。

1.2 Cycloviolacin O2 的核磁共振谱测试

将 cycloviolacin O2 样品 16 mg 溶于 500 μl 溶剂中（50 μl CD_3CN + 400 μl H_2O + 50 μl D_2O），在 Bruker DRX600 仪器上测定样品的 ^1H NMR、TOCSY、ROESY。

1.3 Cycloviolacin O2 的质谱检测

取约 20 μg 的 cycloviolacin O2 的干样溶于 20 μl 含 100 mmol/L 碳酸氢铵的缓冲溶液（pH 8.1）中，加新配制的含 100 μmol/L 三羧乙基膦（tris-carboxyethyl phosphine，TCEP）的溶液后于 55℃下反应 30 min。反应结束后，将之等分为两份各 10 μl，分别装入 eppendorff 管中，其中一管加 5 μl 含 40 μg/ml 的胰蛋白酶（trypsin）和 5 μl 含 40 μg/ml 的内切蛋白酶 GluC（TE），另一管加入 5 μl 含 40 μg/ml 的糜蛋白酶（chymotrypsin）和 5 μl 含 40 μg/ml 的内切蛋白酶 GluC（CE），于 37℃下进行 3 h 消化。

消化结束后采用微量移液器吸头微量固相萃取脱盐及除去加入的消化蛋白酶。即用 50 μl 含 1%甲酸的 70%乙腈溶剂反复吸取 20 次以活化微量移液器吸头内的固相萃取材料，再以 50 μl 含 1%甲酸溶液（平衡液）反复吸取 20 次平衡固相萃取材料。同法吸入消化好的样品再分步洗脱，首先用 20 μl 平衡液和 20 μl 含 1%甲酸的 5%乙腈溶剂反复洗脱，最后以 10 μl 含 1%甲酸的 80%乙腈溶剂将消化好的的样品洗脱下来即为供检液，进行 MALDI-TOF MS 和 MS MS 分析。

1.4 Kalata B1 和 vary peptide A 混合物的结构测定方法同 cycloviolacin O2。

2 结构分析与讨论

2.1 Cycloviolacin O2 二维核磁共振谱图解析

通过 TOCSY 二维核磁谱图（图 1）可识别出样品中所含的 27 个氨基酸残基的质子自旋系统，分别为一个丙氨酸残基（A）、六个半胱氨酸残基（C）、一个谷氨酸残基（E）、三个甘氨酸残基（G）、三个异亮氨酸残基（I）、二个赖氨酸残基（K）、五个丝氨酸残基（S）、二个缬氨酸残基（V）、一个精氨酸残基（R）、一个色氨酸残基（W）、一个酪氨酸残基（Y）和一个门冬酰胺残基（N）。另外在高场区的信号还显示了一个异亮氨酸残基（I）和两个脯氨酸残基（P）的质子自旋系统。表 1 给出了该分子 30 个氨基酸残基的质子化学位移。

通过 ROESY 谱图（图 2）中前一个氨基酸残基的α碳上的氢与后一个氨基酸残基中氮上的氢的相关峰把不同的氨基酸残基连接成两个大的片段，分别为 CGESCVWI 和 SSAIGCSCKSKVCYRNGI。

至此分子只剩下 4 个氨基酸残基（P、P、C、I）的连接及通过 ROESY 推测出的两个片段如何连接的问题未解决。而从以上分析推测，该样品可能是 cycloviolacin O2。

2.2 Cycloviolacin O2 质谱数据分析

样品还原前与还原后的质谱（MALDI-TOF MS）如图 3、4 所示：从图中可以看出样品分子中的三对二硫键经三羧乙基膦（TCEP）还原后，其分子量增加了 6 个单位，反应完全。

通过对样品进行胰蛋白酶和内切蛋白酶 GluC 的专一性酶切降解和 MALDI-TOF MS 分析，TE 质谱图显示有分子量为 3163、2493、1972、1757、1211 的酶解片段峰存在。而通过对样品用

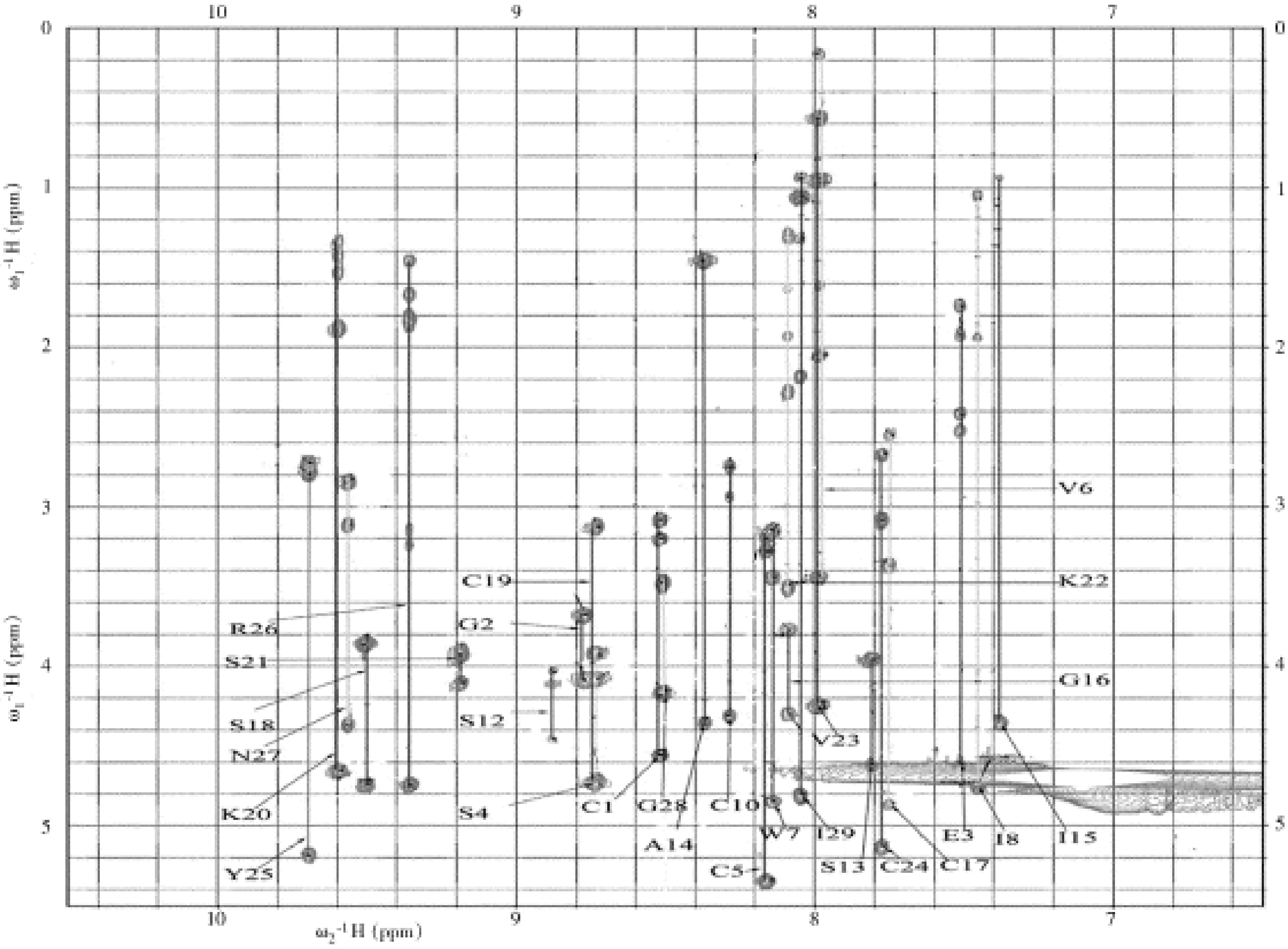


图 1　Cycloviolacin O2 的 TOCSY 谱图

Fig . 1　TOCSY spectrum of cycloviolacin O2

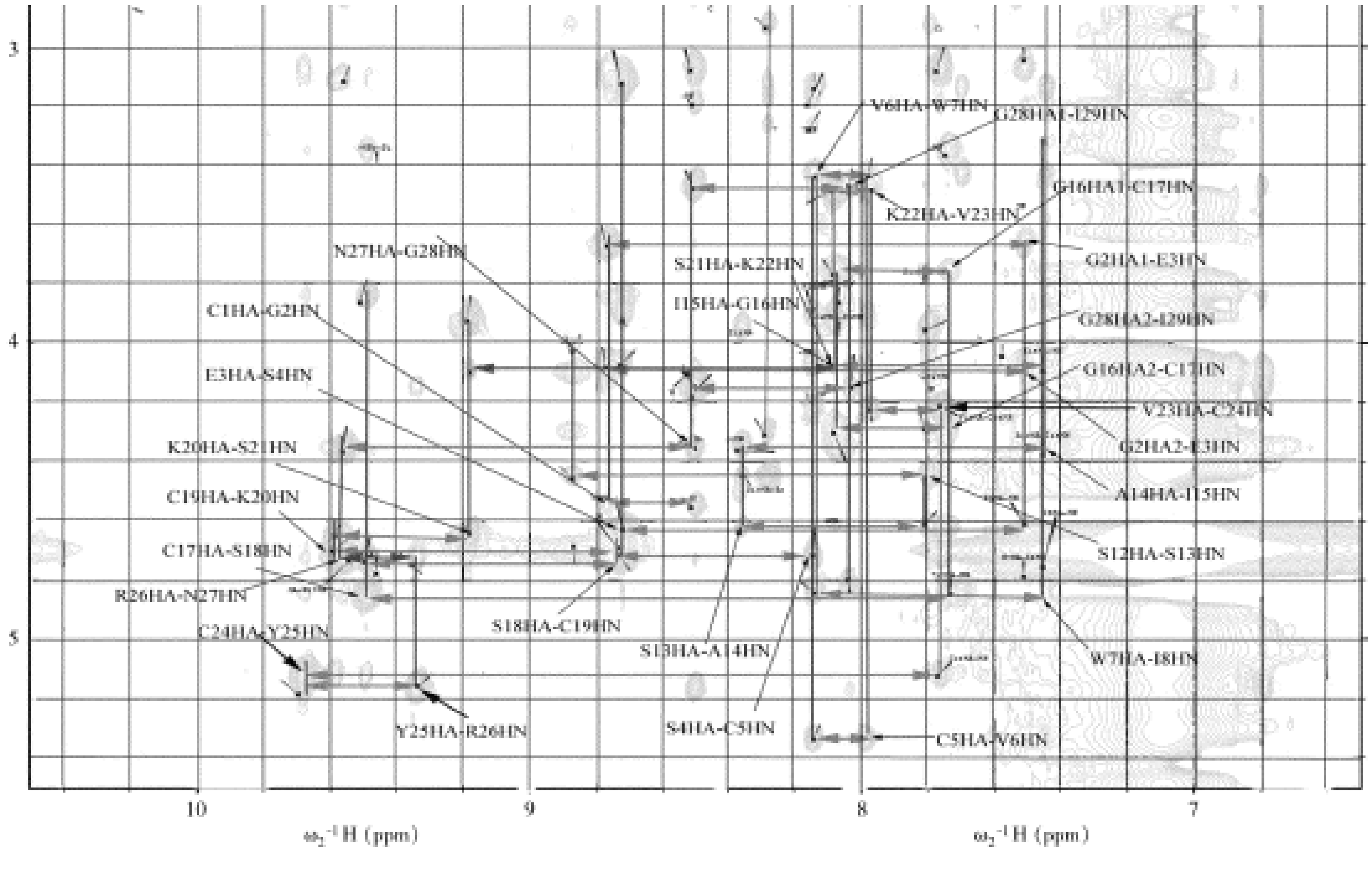


图 2　Cycloviolacin O2 的 ROESY 谱图

Fig . 2　ROESY spectrum of cycloviolacin O2

糜蛋白酶和内切蛋白酶 GluC 的专一性酶切降解和 MALDI-TOF MS 分析，CE 则显示有 3163、2337、1862 的酶解片段峰存在。将质谱上所显示的峰与环蛋白数据库中用相同方法处理的 cycloviolacin O2 所得到的质谱数据进行比对，这些酶解片段序列分别确定为：

TE：3163 （SCVWIPCISSAIGCSCKSKVCYRNGIPCGE）
2493 （SCVWIPCISSAIGCSCKSKVCYR）
1972 （SCVWIPCISSAIGCSCKSK）
1757 （SCVWIPCISSAIGCSCK）
1211 （VCYRNGIPCGE）

CE：3163 （SCVWIPCISSAIGCSCKSKVCYRNGIPCGE）
2337 （SCVWIPCISSAIGCSCKSKVCY）
1862 （IPCISSAIGCSCKSKVCY）

表 1 Cycloviolacin O2 分子中 30 个氨基酸残基的质子化学位移

Table 1 Proton chemical shifts of 30 amino acid residues in cycloviolacin O2

氨基酸残基 Amino acid residues	质子 Proton	化学位移值 δ_H	氨基酸残基 Amino acid residues	质子 Proton	化学位移值 δ_H	氨基酸残基 Amino acid residues	质子 Proton	化学位移值 δ_H	氨基酸残基 Amino acid residues	质子 Proton	化学位移值 δ_H
C1	HA	4.556	I8	HA	4.757	I15	HB	1.915	V23	HN	7.971
C1	HB2	3.081	I8	HB	1.870	I15	HG12	1.181	V23	QG1	0.669
C1	HB3	3.197	I8	HG12	1.021	I15	HG13	1.430	C24	HA	5.124
C1	HN	8.493	I8	HG13	1.421	I15	HN	7.455	C24	HB2	2.663
G2	HA1	3.639	I8	HN	7.505	I15	QG1	0.851	C24	HB3	3.083
G2	HA2	4.065	I8	QG1	0.834	I15	QG2	1.181	C24	HN	7.730
G2	HN	8.771	I8	QG2	0.959	G16	HA1	3.742	Y25	HA	5.135
E3	HA	4.622	P9	HA	4.423	G16	HA2	4.242	Y25	HB2	2.675
E3	HB2	1.687	P9	HB2	2.401	G16	HN	8.184	Y25	HB3	2.771
E3	HB3	1.933	C10	HA	4.312	C17	HA	4.814	Y25	HN	9.694
E3	HN	7.532	C10	HB2	2.747	C17	HB2	2.546	R26	HA	4.742
E3	QG	2.407	C10	HB3	2.936	C17	HB3	3.388	R26	HN	9.291
S4	HA	4.718	C10	HN	8.320	C17	HN	7.772	N27	HA	4.361
S4	HB2	3.896	I11	HA	4.104	S18	HA	4.713	N27	HB2	2.851
S4	HB3	4.028	I11	HB	1.890	S18	HN	9.479	N27	HB3	3.117
S4	HN	8.737	I11	HN	8.197	S18	QB	3.829	N27	HN	9.559
C5	HA	5.300	I11	QG1	1.188	C19	HA	4.698	G28	HA1	3.474
C5	HB2	3.198	S12	HA	4.373	C19	HN	8.801	G28	HA2	4.150
C5	HB3	3.281	S12	HN	8.701	C19	QB	3.125	G28	HN	8.505
C5	HN	8.123	S12	QB	4.032	K20	HA	4.647	I29	HA	4.802
V6	HA	3.393	S13	HA	4.531	K20	HN	9.590	I29	HB	2.098
V6	HB	1.545	S13	HB2	3.825	S21	HA	3.995	I29	HG12	1.318
V6	HN	7.961	S13	HB3	3.957	S21	HN	9.184	I29	HG13	1.587
V6	QG1	0.102	S13	HN	7.808	S21	QB	3.927	I29	HN	8.034
V6	QG2	0.887	A14	HA	4.371	K22	HA	3.485	I29	QG1	0.937
W7	HA	4.817	A14	HN	8.366	K22	HN	8.117	I29	QG2	1.051
W7	HB2	3.093	A14	QB	1.391	V23	HA	4.221	P30	HA	4.139
W7	HB3	3.416	I15	HA	4.095	V23	HB	1.966	P30	HB2	2.149
W7	HN	8.169									

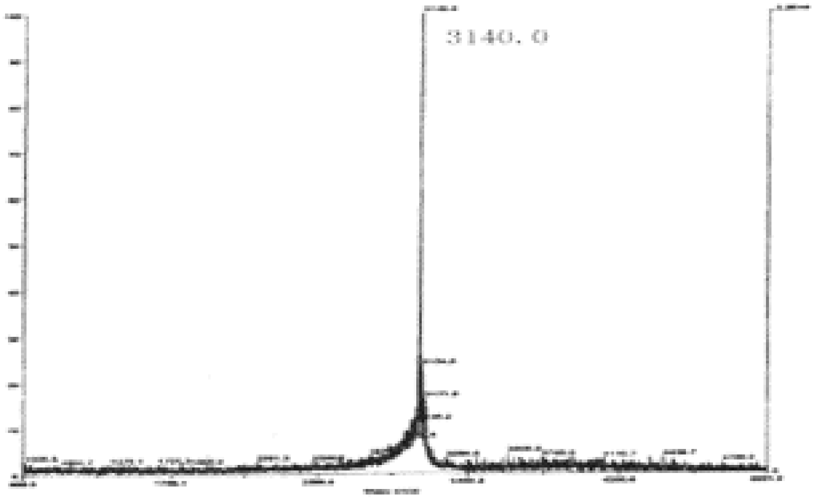


图 3 样品还原前 MALDI-TOF MS 质谱图

Fig.3 MALDI-TOF MS spectrum before reduction of cycloviolacin O2

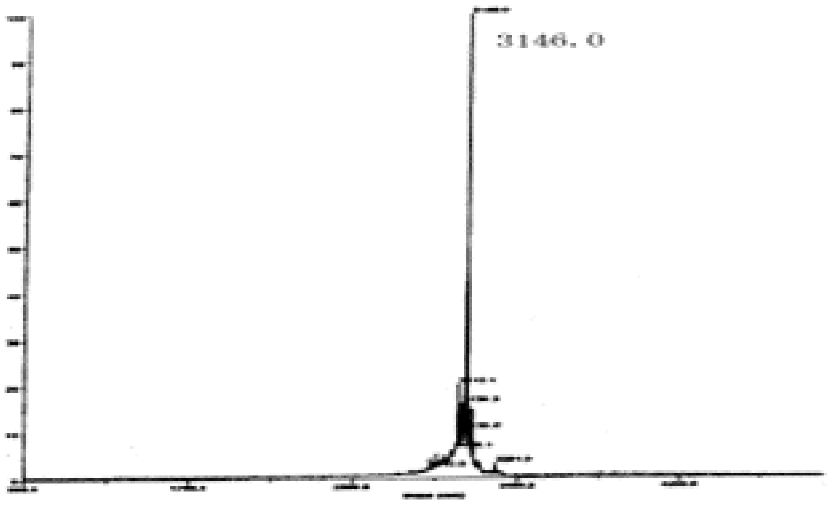


图 4 样品还原后 MALDI-TOF MS 质谱图

Fig.4 MALDI-TOF MS spectrum after reduction of cycloviolacin O2

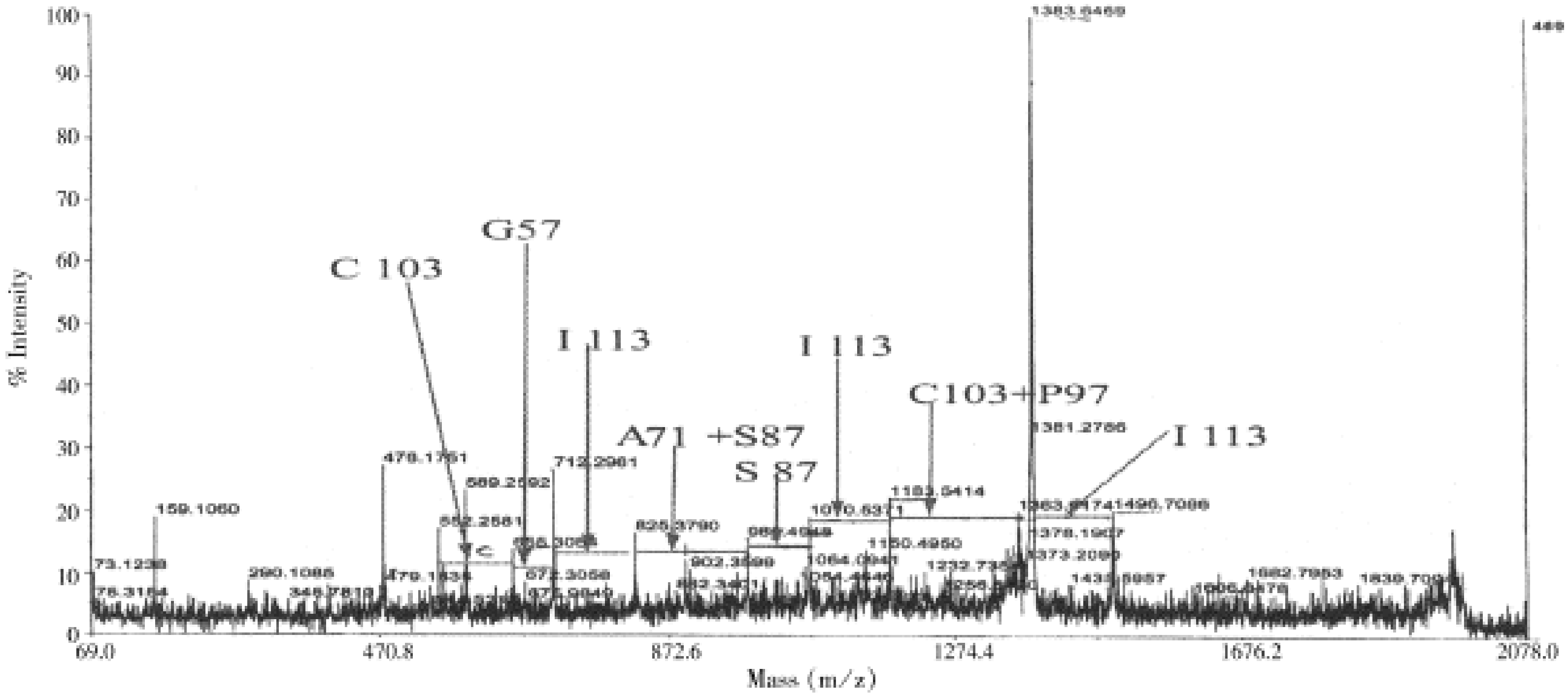


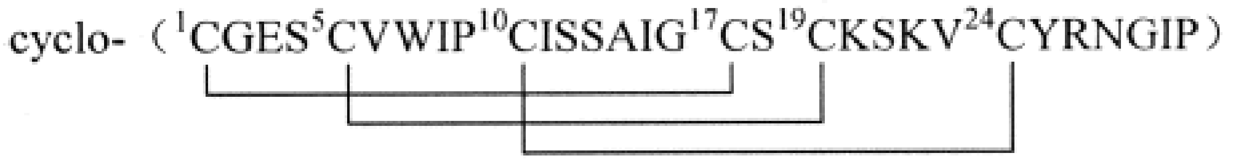
图 5　CE 酶解片段中 1862 峰的 MS MS 谱

Fig . 5　MS MS spectrum of the 1862 fragment of CE digested products of cycloviolacin O2

从比对结果中可以找到分子中剩余的 4 个氨基酸残基（P、P、C、I）的可能连接及由 ROESY 推测出的两个片段是如何连接的。对其中能提供结构信息的酶片段进一步做 MS MS 分析即可推测其结构，如通过对 CE 酶解片段中分子量为 1862 片段进行 MS MS 的分析，如图 5 所示，即可证实有 IPCISSAIGC 片段的存在。

2.3　Cycloviolacin O2 结构确定

二维核磁共振谱图（ROESY）所建立的两个片段、环蛋白数据库质谱数据比对及对酶解片段的 MS MS 分析确定该环蛋白为 cycloviolacin O2 (Craik 等，1999)，含 30 个氨基酸残基，分子量为 3141，其结构如下（图 6）：



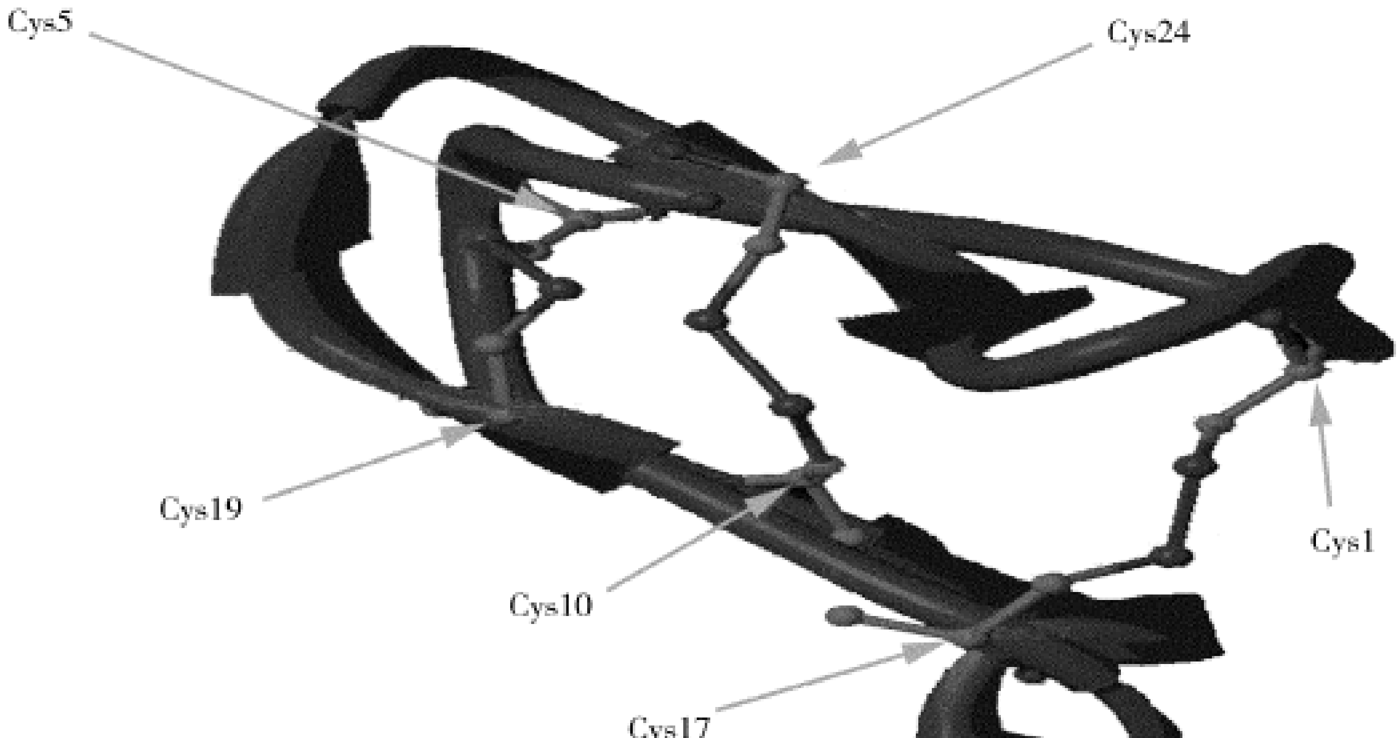
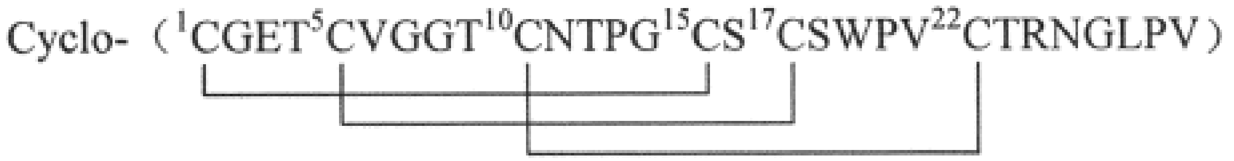


图 6　Cycloviolacin O2 的模拟结构

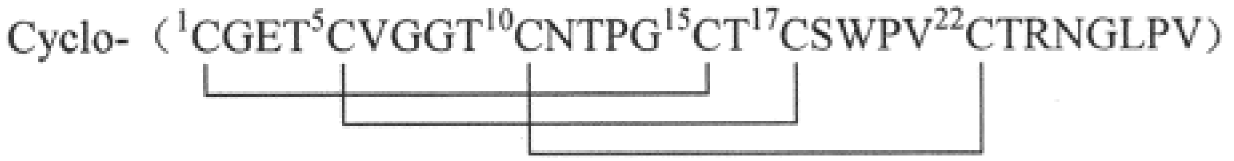
Fig . 6　Structure of cycloviolacin O2

2.4 Vary peptide A 和 kalata B1 的结构测定与确定

样品通过与 cycloviolacin O2 相同处理方法进行结构测定，从其质谱图上可以看到两个分子离子峰，分子量分别为 2878 和 2892，比列约为 2∶1。这两个分子的 TOCSY、ROESY 谱图很相似，唯一不同的是第 16 个氨基酸残基在分子量为 2878 的分子中为丝氨酸（Ser），而在分子量为 2892 的分子中为苏氨酸（Thr）。由于这两个氨基酸残基在其分子氨基酸序列中所处的位置一样，它们的化学位移相差很小，但它们的质子自旋系统不同，因此在 TOCSY、ROESY 谱图上可以将其区分开来。最后综合其质谱和二维核磁 TOCSY、ROESY 谱图中所得到的信息与环蛋白数据库中的数据进行比对，分别将其结构确定为 Vary peptide A（1）(含 29 个氨基酸残基，分子量为 2878)（Claeson 等，1998）和 kalata B1（2）（含 29 个氨基酸残基，分子量为 2892）（Saether 等，1995）。


Cyclo-（^{1}CGET^{5}CVGGT^{10}CNTPG^{15}CS^{17}CSWPV^{22}CTRNGLPV）

（1）


Cyclo-（^{1}CGET^{5}CVGGT^{10}CNTPG^{15}CT^{17}CSWPV^{22}CTRNGLPV）

（2）

致谢 澳大利亚 Queensland 大学分子生命科学研究所在样品结构测定中所给予帮助；何敏及本组成员在样品采集及实验过程中给予帮助。

〔参考文献〕

Claeson P, Goransson U, Johansson S *et al.*, 1998. Fractionation protocol for the isolation of polypeptides from plant biomass [J]. *J Nat Prod*, **61**: 77—81

Craik DJ, Daly NL, Bond T *et al.*, 1999. Plant cycotides: A unique family of cyclic and knotted proteins that defines the cyclic cystine knot structure motif [J]. *J Mol Biol*, **294**: 1327—1336

Craik DJ, Daly NL, Mulvenna J *et al.*, 2004. Discovery, structure and biological activities of the cyclotides [J]. *Curr Prot Pept Sci*, **5**: 297—315

Daly NL, Love S, Alewood PF *et al.*, 1999. Chemical synthesis and folding pathways of large cyclic polypeptides: Studies of the cystine knot polypeptide kalata B1 [J]. *Biochemistry*, **38**: 10606—10614

Gran L, 1973a. Oxytocic principles of *Oldenlandia affinis* [J]. *Lloydia*, **36**: 174—178

Gran L, 1973b. Isolation of oxytocic peptides from *Oldenlandia affinis* by solvent extraction of tetraphenylborate complexes and chromatography on Sephadex LH-20 [J]. *Lloydia*, **36**: 207—208

Gustafson KR, Sowder RC, Henderson LE *et al.*, 1994. Circulins A and B: Novel HIV-inhibitory macrocyclic peptides from the tropical tree *Chasslia parvifolia* [J]. *J Am Chem Soc*, **116**: 9337—9338

Hernandez JF, Gagnon J, Chiche L *et al.*, 2000. Squash trypsin inhibitors from *Momordica cochinchinensis* exhibit an atypical macrocyclic structure [J]. *Biochemistry*, **39**: 5722—5730

Jennings C, West J, Waine C *et al.*, 2001. Biosynthesis and insecticidal properties of plant cyclotides: The cyclic knotted proteins from *Oldenlandia affinis* [J]. *Proc Natl Acad Sci*, **98**: 10614—10619

Saether O, Craik DJ, Campbell ID *et al.*, 1995. Elucidation of the primary and three-demensional structure of the uterotonic polypeptide kaklata B1 [J]. *Biochemistry*, **34**: 4147—4158

Simonsen SM, Sando L, Ireland DC *et al.*, 2005. A continent of plant defense peptide diversity: Cyclotides in Australian *Hybanthus* (Violaceae) [J]. *The Plant Cell*, **17**: 3176—3189

Tam JP, Lu YA, Yang JL *et al.*, 1999a. An unusual structural motif of antimicrobial peptides containing end-to-end macrocycle and cystine-knot disulfides [J]. *Proc Natl Acad Sci*, **96**: 8913—8918

Tam JP, Lu YA, Yu QT, 1999b. Thia-zip reaction for synthesis of large cyclic peptides: Mechanisms and applications [J]. *J Am Chem Soc*, **121**: 4316—4324

Tan NH, Zhou J, 2006. Plant cyclopeptides [J]. *Chem Rev*, **106**: 840—895

Witherup KM, Bogusky MJ, Anderson PS *et al.*, 1994. Cyclopsychotride A, a biological active, 31-resdue cyclic peptide isolated from *Psychotria longipes* [J]. *J Nat Prod*, **57**: 1619—1625